

Aus dem Serologischen Laboratorium von Dr. Georg Meier
in Berlin.

Salvarsan und Hämolyse.

Von Dr. Hermann Mayer.

Als man dazu überging, das Salvarsan vorwiegend intravenös zu injizieren, hielt man es für selbstverständlich, daß man zur Lösung physiologische, d. i. 0,9 %ige Kochsalzlösung verwenden müsse, trotzdem doch eigentlich der Gedanke nahe lag, daß durch die Hinzufügung des Salvarsans die Lösung dem Blute gegenüber hypertonic werden müsse. Als ebenso selbstverständlich schien man es anzusehen, daß die physiologische Kochsalzlösung ein geeignetes Lösungsmittel für das Salvarsan, sei es in saurer oder alkalischer Lösung, abgebe. Da ich an der Richtigkeit dieser beiden Voraussetzungen zweifelte, machte ich mich daran, die Verhältnisse im Reagenzglas zu prüfen. A priori nahm ich an, daß schon reine Salvarsanlösung ohne Kochsalzzusatz keine deutliche Hypertonie gegenüber Blut aufweisen würde; diese Annahme war, wie das Experiment zeigte, falsch. Dagegen hatte ich recht mit einer anderen Annahme, nämlich mit derjenigen, daß bei der Verwendung physiologischer Kochsalzlösung leichter eine Fällung des Salvarsans eintrete als bei der Verwendung stärker verdünnter Kochsalzlösungen.

Während ich mit meinen Reagenzglasversuchen beschäftigt war, erschien in dieser Wochenschrift (No. 12) die Arbeit von Marschalko, welcher das Verdienst hat, es erster auf die Frage der Kochsalzkonzentration hingewiesen zu haben. Da Marschalko es für wahrscheinlich hält, daß die stürmischen Erscheinungen nach intravenösen Salvarsaninjektionen

(Schüttelfrost etc.) auf einer Hypertonie der Lösung als solcher beruhen, ging er zur Verwendung hypotonischer Kochsalzlösungen über mit dem Erfolge, daß die stürmischen Reaktionen nicht mehr oder doch stark vermindert auftreten. Mit diesem Bericht stimmen meine klinischen Erfahrungen völlig überein; seit ich 0,5 %ige Kochsalzlösung zur Injektion des Salvarsans verwende, habe ich bei allen (28) Patienten (mit einer Ausnahme) höchstens eine Temperatursteigerung (bis 38,4°) ohne Schüttelfrost, ohne Erbrechen und ohne Durchfälle erlebt. Ich darf hier wohl nebenbei erwähnen, daß ich 0,3—0,4 g Salvarsan (je nach dem Körpergewicht des Patienten) injiziere, und zwar in allen Fällen dreimal in genau abgemessenen Abständen von je 14 Tagen.

In dem einen Ausnahmefall bekam der Patient allerdings nach der ersten und zweiten intravenösen Injektion von Salvarsan (0,36 resp. 0,4) mäßiges Fieber (38,2°) mit Schüttelfrost und Durchfall drei Stunden nach der Injektion. Die dritte Injektion hat der Patient noch nicht erhalten.

Marschalko postuliert demnach mit Recht, daß man Kochsalzlösungen von niedriger Konzentration (0,4—0,6%) verwenden müsse. Seine Begründung dieses Postulats stimmt jedoch nicht mit den Tatsachen überein, welche meine Reagenzglasversuche ergeben haben. Wenn Marschalkos Annahme, daß die stürmischen Erscheinungen auf einer Hypertonie der Lösung als solcher beruhen, richtig wäre, so müßte die mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellte Salvarsanlösung eine ganz bedeutende Hypertonie besitzen. Dies ist aber nicht der Fall. Die Hypertonie ist, wie meine Versuche zeigten, gegenüber Blut äußerst gering.

Zu meinen Versuchen verwandte ich sorgfältig gewaschene, d. h. vom Serum befreite Menschenblutkörperchen. Zunächst versetzte ich in verschiedenen Reagenzgläsern je 1,9 ccm Kochsalzlösung verschiedener Konzentration mit 0,1 ccm Menschenblut; ich hatte also in jedem Glase eine Verdünnung von 1 : 20. Das Ergebnis geht aus folgendem Protokoll hervor. Die Abkürzungen bedeuten: k. L. = komplette Lösung; f. k. L. = fast komplette Lösung; st. L. = starke Lösung; beg. L. = beginnende Lösung; 0 = keine Lösung.

Kochsalz- lösung		Menschenblut	=	
0,1 %ig	+	"	=	k. L.
0,2 %ig	+	"	=	k. L.
0,3 %ig	+	"	=	f. k. L.
0,4 %ig	+	"	=	st. L.
0,5 %ig	+	"	=	beg. L.
0,6 %ig	+	"	=	0
0,7 %ig	+	"	=	0
0,8 %ig	+	"	=	0
0,9 %ig	+	"	=	0

Die Röhren blieben 15 Minuten bei 37° C im Brutschrank.

Der nächste Versuch wurde mit alkalischer Salvarsanlösung in der Verdünnung von 1 : 500 und Menschenblut angestellt; als Lösungsmittel wurde wieder Kochsalzlösung verschiedener Konzentration angewendet. Die Alkaleszenz wurde genau wie zum Zwecke der intravenösen Injektion hergestellt: 0,7 ccm Normalnatronlauge auf 0,1 g Salvarsan, dann tropfenweise Normalnatronlauge, bis völlig klare Lösung.

Kochsalzlösung
und Salvarsan

1 500		Menschenblut	=	
0,1 %ig	+	"	=	k. L.
0,2 %ig	+	"	=	k. L.
0,3 %ig	+	"	=	f. k. L.
0,4 %ig	+	"	=	beg. L.
0,5 %ig	+	"	=	0
0,6 %ig	+	"	=	0
0,7 %ig	+	"	=	0
0,8 %ig	+	"	=	0
0,9 %ig	+	"	=	0

Diese starke Salvarsanlösung, welche ungefähr 12—15 mal so konzentriert ist wie die nach der Injektion im Blut kreisende, zeigte in den hypotonischen Kochsalzlösungen von 0,6% abwärts keinen bedeutenden Unterschied gegenüber den salvarsanfreien Kochsalzlösungen; bei 0,4%iger und 0,5%iger Kochsalzlösung besteht eine kleine Differenz in dem Grad der Hämolyse.

Nunmehr folgen diejenigen Salvarsanverdünnungen, welche ungefähr der nach der Injektion im Blute kreisenden ent-

sprechen: 1 : 5000, 1 : 10 000 und 1 : 20 000. Die Resultate waren folgende:

Kochsalzlösung	Salv. $\frac{1}{5000}$	Salv. $\frac{1}{10000}$	Salv. $\frac{1}{20000}$
0,1 %	k. L.	k. L.	k. L.
0,2 %	k. L.	k. L.	k. L.
0,3 %	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.
0,4 %	beg. L.	st. L.	st. L.
0,5 %	0	beg. L.	beg. L.
0,6 %	0	0	0
0,7 %	0	0	0
0,8 %	0	0	0
0,9 %	0	0	0

Von diesen schwachen Konzentrationen sticht nur die stärkste, 1 : 5000, in ihrer hämolytischen Wirkung etwas ab; aber wir injizieren niemals eine Lösung, welche im kreisenden Blut einer Salvarsanlösung von 1 : 5000 entspricht. Die beiden anderen Konzentrationen verhalten sich fast genau wie die entsprechenden Kochsalzlösungen ohne Salvarsan; bei 0,5%iger Kochsalzlösung zeigte sich die beginnende Lösung etwas schwächer, kaum bemerkbar. Wir dürfen also wohl mit Recht behaupten, daß das Salvarsan in den therapeutisch verwendeten Dosen keine Hypertonie des Blutes erzeugt.

Stärkere Hypertonie würde sich außerdem auch mikroskopisch durch Schrumpfung der roten Blutkörperchen kundgeben; ich konnte mikroskopisch auch bei Verwendung 0,9%iger Kochsalzlösung mit Salvarsan in den oben erwähnten Konzentrationen (1 : 500, 1 : 5000 etc.) keine Schrumpfung nachweisen.

Zur Bestätigung habe ich auch die nach 24 Stunden sichtbare Nachlösung kontrolliert; sie fehlte bei allen mit 0,8 und 0,9%iger Kochsalzlösung hergestellten Salvarsanlösungen; mit 0,7%iger Kochsalzlösung war die Nachlösung sehr gering, mit 0,5 und 0,6%iger war sie gering, mit 0,3 und 0,4%iger war die Nachlösung komplett.

Interessant war das Verhalten aller alkalischen Salvarsanlösungen, welche ohne Zusatz von Blut geblieben waren. In den mit höherprozentigen (0,7—0,9%) Kochsalzlösungen angefertigten Lösungen trat schon nach zehn Minuten ein feinsten Niederschlag auf, der desto stärker war, je höher der Prozentgehalt an Kochsalz. Ich führe nur das mit der Salvarsanlösung 1 : 5000 erzielte Resultat an.

Kochsalzlösung	nach 30 Minuten	nach 2 Stunden
0,1 %	keine Trübung	sehr geringe Trübung
0,2 %	" "	geringe Trübung
0,3 %	" "	mittlere "
0,4 %	" "	" "
0,5 %	sehr geringe Trübung	starke Trübung
0,6 %	geringe Trübung	noch stärkere Trübung
0,7 %	mittlere "	sehr starke Trübung
0,8 %	" "	" "
0,9 %	" "	" "

Ich bemerke ausdrücklich, daß zu Beginn des Versuches alle Lösungen tadellos klar waren. Wie das obenstehende Protokoll ergibt, hängt die Trübung, welche eine Salvarsanlösung bedingt, ohne Zweifel von der Konzentration der Kochsalzlösung ab. Sie macht sich nach 30 Minuten auch bei Verwendung 0,5%iger Kochsalzlösung bemerkbar.¹⁾ Liegt da nicht der Gedanke nahe, daß vielleicht diese feinste Ausfällung der Substanz, die im Blute bei Verwendung physiologischer Kochsalzlösung wohl in größerem Maßstabe stattfindet, für die stürmischen Erscheinungen nach der Injektion verantwortlich zu machen ist? Sollte nicht vielleicht der Schüttelfrost darauf hindeuten, daß nach den verschiedensten Gegenden des Körpers durch den Blutkreislauf aller kleinste, feste Teilchen der fremden Substanz geschleudert werden? Wie dem auch sei, wir müssen eine möglichst vollkommene und möglichst lange unverändert bleibende Lösung injizieren; als die für diesen Zweck brauchbarste Kochsalzlösung möchte ich die 0,5%ige bezeichnen, da sie einerseits im Reagenzglas eine äußerst geringe, im zirkulierenden Blut sicherlich gar keine Hämolyse veranlaßt, andererseits aber nur eine sehr geringe Trübung der Salvarsanlösung eintreten läßt. Wer, wie ich, 300 cem Salvarsanlösung herstellt, der nimmt am besten zur Auflösung der Substanz 130 cem destilliertes Wasser, um

¹⁾ Die Ausfällung ist auch verschieden stark, wenn man bei gleicher Kochsalzkonzentration verschiedene Ampullen des Salvarsans zur Lösung benutzt. So zeigte der Inhalt von fünf Ampullen der Operationsnummer „138“ ein ganz verschiedenes Verhalten.

schließlich mit 170 cem 0,9%iger Kochsalzlösung auf 300 cem zu ergänzen. Auf diese Weise ist das Salvarsan in 0,5%iger Kochsalzlösung gelöst.

Für diejenigen Patienten, welche trotz Verwendung hypotonischer Kochsalzlösung Schüttelfrost bekommen, nehme ich an, daß in ihrem Blute die Salvarsanauflösung leichter und stärker eintritt als in dem Blute derjenigen, die von Schüttelfrost freibleiben.¹⁾ Mir ist es aufgefallen, daß auch bei dem früheren Injektionsmodus (0,9%ige Kochsalzlösung) Frauen viel seltener Schüttelfrost bekamen als Männer. Wechselmann berichtet neuerdings, daß auf der Dermatologischen Frauenabteilung des Virchow-Krankenhauses auffallend wenig Reaktionen vorkamen. Allerdings gibt er eine ganz andere Erklärung, indem er die Reaktionen auf ungenügende Sterilität der Kochsalzlösung zurückführt. Wenn diese Anschauung richtig wäre, so müßten sich die Reaktionen ausnahmslos vermeiden lassen. Das ist jedoch nicht der Fall. Wechselmann sagt selbst: „Nunmehr blieb fast völlig ausnahmslos jede Reaktion fort.“ Ich selbst habe von Anfang an die Kochsalzlösung stets frisch bereitet und kurz vor der Injektion durch $\frac{1}{2}$ —1 stündiges Kochen sterilisiert und habe trotzdem in einigen Fällen bei Verwendung 0,9%iger Kochsalzlösung Schüttelfröste gesehen. Die mangelnde Sterilität der Injektionsflüssigkeit gibt ebensowenig die Ursache für den Schüttelfrost nach intravenöser Injektion ab, wie sie seinerzeit für die großen Nekrosen nach subkutaner Injektion verantwortlich zu machen war. Der Schüttelfrost ist zurückzuführen auf das Salvarsan und die individuelle Blutbeschaffenheit des Patienten.

Es war mir ferner interessant festzustellen, wie sich die verschiedenen, von mir ohne Kochsalz hergestellten Salvarsanlösungen nach einem größeren Zeitraum verhielten; ich kontrollierte nach 24 Stunden. Es zeigte sich nur die alkalische Stammlösung 1 : 100 verändert, indem eine starke Trübung bestand. Die saure Lösung 1 : 100, die saure Lösung 1 : 5000, die alkalischen 1 : 5000 und 1 : 10 000 waren völlig unverändert.

Ich suchte auch festzustellen, ob sich ein Unterschied in der Einwirkung auf die durch Hypotonie erzeugte Hämolyse erkennen ließe, je nachdem man saure oder alkalische Salvarsanlösung ohne Zusatz von Kochsalz verwendet.

	Saure Lösung ohne Kochsalz	Alkalische Lösung ohne Kochsalz
1		
5000	st. L.	k. L.
1		
10000	f. k. L.	k. L.

Ein Unterschied ist also in der Tat zu konstatieren, indem in saurer Lösung die Hämolyse geringer ist. Es tritt demnach gerade das Gegenteil von dem ein, was Marschalko erwartet. Denn mit diesem Versuch ist bewiesen, daß durch das Versetzen der Salvarsanlösung mit Natronlauge keine Hypertonie erzeugt wird, welche genügen könnte, die Hämolyse zu hemmen. Die geringe Hemmung der Hämolyse in saurer Lösung ist eben auf den Säuregehalt zurückzuführen.

Sehr nahe lag es nach all diesen Ergebnissen, den Einfluß des Salvarsans auf die Wassermannsche Reaktion im Reagenzglas zu studieren; in der Tat zeigte sich regelmäßig bei der Anstellung des sog. hämolytischen Verversuchs, bei der Prüfung des hämolytischen Systems ein deutlicher Einfluß. Die Hämolyse blieb schon bei solchen Konzentrationen des hämolytischen Ambozeptors, die ohne Salvarsan noch eine komplette Hämolyse ergaben, aus oder war doch deutlich geringer. Ich führe hier die Protokolle von Vorversuchen an, welche mit zwei verschiedenen Ambozeptoren angestellt wurden. Alle Reagentien: Komplement (Meerschweinenserum), Hammelblut und Amboceptor (Kaninchenserum) waren in 0,85%iger

¹⁾ Herr Geheimrat Ehrlich teilt, wie er uns schriftlich mitzuteilen die Liebenswürdigkeit hatte, diese Ansicht nicht; vielmehr glaubt er, daß derartige Reagenzglasversuche nicht in absolute Analogie mit den Vorgängen im Organismus zu stellen sind insofern, als nach Injektion von Salvarsan das Präparat sofort von den Geweben, resp. den Parasiten aufgenommen werde und daher kurze Zeit nach erfolgter Injektion nur eine ganz minimale Blutkonzentration des Salvarsans, die seiner Löslichkeit entsprechen könnte, vorhanden sei. Diese Anschauung stützt Ehrlich auf viele Tierversuche, die er früher mit schwerlöslichen Stoffen, insbesondere Farbstoffen, die leicht verfolgt werden können, vorgenommen hat.

Kochsalzlösung gelöst, ganz nach der Methodik des Wassermannschen Laboratoriums; in den Salvarsanreihen waren alle Reagentien mit einer in 0,85%iger Kochsalzlösung hergestellten Salvarsanlösung verdünnt.

I. Ambozeptor Hi 183.

a) Ohne Salvarsan.	Ambozeptor- verdünnung	nach $\frac{1}{4}$ Std. i. Brutschrank	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.
	$\frac{1}{200}$	k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{400}$	k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{800}$	f. k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{1600}$	st. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{3200}$	0	f. k. L.	f. k. L.
	$\frac{1}{6400}$	0	0	0

b) Mit Salvarsan	$\frac{1}{5000}$			
	$\frac{1}{200}$	k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{400}$	f. k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{800}$	0	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{1600}$	0	0	st. L.
	$\frac{1}{3200}$	0	0	0
	$\frac{1}{6400}$	0	0	0

c) Mit Salvarsan	$\frac{1}{10000}$			
	$\frac{1}{200}$	k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{400}$	f. k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{800}$	beg. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{1600}$	0	beg. L.	f. k. L.
	$\frac{1}{3200}$	0	0	0
	$\frac{1}{6400}$	0	0	0

Komplement- und Kochsalzkontrollen mit und ohne Salvarsan blieben ungelöst.

II. Ambozeptor Ko 303.

a) Ohne Salvarsan.				
	$\frac{1}{200}$	f. k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{400}$	f. k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{800}$	beg. L.	f. k. L.	k. L.
	$\frac{1}{1600}$	0	beg. L.	f. k. L.
	$\frac{1}{3200}$	0	0	st. L.
	$\frac{1}{6400}$	0	0	beg. L.

b) Mit Salvarsan	$\frac{1}{5000}$			
	$\frac{1}{200}$	st. L.	f. k. L.	f. k. L.
	$\frac{1}{400}$	beg. L.	f. k. L.	f. k. L.
	$\frac{1}{800}$	0	0	0
	$\frac{1}{1600}$	0	0	0
	$\frac{1}{3200}$	0	0	0
	$\frac{1}{6400}$	0	0	0

c) Salvarsanlösung	$\frac{1}{10000}$			
	$\frac{1}{200}$	f. k. L.	k. L.	k. L.
	$\frac{1}{400}$	beg. L.	f. k. L.	k. L.
	$\frac{1}{800}$	0	0	beg. L.
	$\frac{1}{1600}$	0	0	0
	$\frac{1}{3200}$	0	0	0
	$\frac{1}{6400}$	0	0	0

Kontrollen ebenfalls ungelöst.

Wie aus diesen Protokollen hervorgeht, ist selbst bei Gegenwart einer Verdünnung von $\frac{1}{10000}$ Salvarsan eine deut-

liche Hemmung der Hämolyse zu konstatieren; beide starken Ambozeptoren, welche in der Verdünnung von $\frac{1}{3200}$ ohne Salvarsan fast komplette, resp. starke Lösung erzielten, versagten bei derselben Verdünnung vollkommen, wenn Salvarsan in irgendwelcher Verdünnung zugesetzt war. Es handelte sich dabei um eine wirkliche Hemmung, nicht etwa um eine Trübung durch das Salvarsan, wie der mikroskopische Nachweis ungelöster Erythrozyten ergab.

Bei der Ausführung der eigentlichen Wassermannschen Reaktion, des sog. Hauptversuches, zeigte sich kein Einfluß des Salvarsans auf die sicher positiven und die sicher negativen Reaktionen. Komplette Hemmung und komplette Lösung traten genau so zutage wie beim Versuch ohne Salvarsan. Dagegen zeigten sich die inkompletten Hemmungen bedeutend geringer, wenn Salvarsan zugesetzt war; ein Serum z. B., das ohne Salvarsan fast komplette Hemmung ergab, hatte mit Salvarsan $\frac{1}{5000}$ und $\frac{1}{10000}$ nur geringe Hemmung, ein Serum, das ohne Salvarsan geringe Hemmung ergab, hatte mit Salvarsan $\frac{1}{5000}$ und $\frac{1}{10000}$ fast komplette Lösung. Die platzraubenden Protokolle darf ich wohl hier weglassen.

Wenn wir die Resultate der hämolytischen Vorversuche mit denjenigen der Hauptversuche vergleichen, so ist es auffällig, daß das Salvarsan in beiden Versuchen eine entgegengesetzte Wirkung entfaltet. Im hämolytischen Vorversuch scheint das Medikament die Hämolyse zu hemmen, im Hauptversuch zu beschleunigen.

Zusammenfassung: 1. Die mit physiologischer Kochsalzlösung zur intravenösen Injektion hergestellten Salvarsanlösungen besitzen keine wesentliche Hypertonie gegenüber Blut.

2. In physiologischer Kochsalzlösung tritt früher oder später eine Ausfällung von Salvarsan ein, welche in stärker verdünnten Kochsalzlösungen geringer ist oder ausbleibt.

3. Zu empfehlen ist die 0,5%ige Kochsalzlösung zur intravenösen Salvarsaninfusion.

4. Die Komplementbindung wird durch Salvarsan in gewissem Sinne beeinträchtigt.